دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی کرمان

دانشکده پیراپزشکی

پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد خون‌شناسی آزمایشگاهی و علوم انتقال خون

عنوان

بررسی اثر میکروپارتیکل‌های پلاکتی بر رشد و تکثیر رده سلول سرطانی لوسمی میلوییدی مزمن (K562)

توسط

فریبا نیکروش

استاد راهنما

دکتر هاجر مردانی

استاد مشاور

دکتر روح‌الله میرزایی، دکتر علیرضا فارسی نژاد

سال تحصیلی (آبان ۱۴۰۰)

شماره پایان نامه: ۱۳۳

Kerman University

of Medical Science

Faculty of ParaMedical

In Partial Fulfilment of the Requirements for The Degree MSc

Title :

Investigation of the effect of Platelet microparticles on the growth and proliferation of chronic myeloid leukemia cell line (K562)

By :

Fariba Nikravesh

:Supervisor

Dr. Hajar Mardani valandani

:Co-Supervisor

Dr. Rohollah Mirzaei, Dr Alireza Farsi nejad

(October 2021)

Thesis No :133

فهرست عناوین

۱. فصل اول..... ۱

۱.۱ بیان مسئله و اهمیت موضوع ۲

۱.۱.۱ لوسمی میلوییدی مزمن CML ۲

۱.۱.۲ میکروووزیکول‌ها ۴

۱.۱.۳ میکروپارتیکل پلاکتی ۹

۱.۱.۴ ضرورت و اهمیت پژوهش ۱۲

۱.۲ اهداف ۱۲

۱.۲.۱ هدف کلی پژوهش ۱۲

۱.۲.۲ اهداف جزئی پژوهش ۱۳

۱.۲.۳ اهداف کاربردی پژوهش ۱۳

۱.۲.۴ فرضیات یا سؤالات پژوهش ۱۳

۲. فصل دوم ۱٤

۱.۲ مقدمه ۱۵

۲.۲ پیشینه پژوهش ۱۵

۳. فصل سوم ۱۸

۳.۱ مواد و لوازم ۱۹

۳.۱.۱ دستگاه‌های مورداستفاده ۱۹
۳.۱.۲ مواد مورداستفاده ۲۰
۳.۲ نوع مطالعه: ۲۲
۳.۳ روش‌ها و تکنیک‌های انجام‌شده ۲۲
۳.۴ آماده‌سازی محلول‌ها ۲۳
۳.۴.۱ تهیه محیط کشت RPMI-1640 ..... ۲۳
۳.۵ جداسازی میکروپارتیکل از پلاکت ۲۳
۳.۶ تعیین اندازه میکروپارتیکل‌های پلاکتی جمع‌آوری‌شده ۲۳
۳.۷ بررسی مارکر سطحی میکروپارتیکل‌های جداشده از پلاکت ۲۴
۳.۸ تعیین غلظت میکروپارتیکل‌های پلاکتی ۲۴
۳.۹ کشت سلولی ۲۴
۳.۹.۱ روش کار ۲۶
۳.۱۰ تیمار سلولی ۲۶
۳.۱۱ بررسی زنده‌مانی سلول‌ها با آزمون دفع رنگ تریپان بلو ۲۷
۳.۱۱.۱روش کار ۲۷
۳.۱۲ بررسی میزان Proliferation در سلول‌های K562 پس از تیمار با میکروپارتیکل‌های پلاکتی
۲۸
۳.۱۲.۱روش کار ۲۸

۳.۱۳ بررسی فعالیت متابولیک با روش MTT ۲۸
۳.۱۳.۱روش کار ۲۸
۳.۱۴ بررسی آپوپتوز ۲۹
۳.۱۴.۱روش کار ۳۰
۳.۱۵ بررسی چرخه سلولی ۳۰
۳.۱۶ بررسی بیان ژن با : Quantitive Real Time PCR ۳۱
۳.۱۷ استخراج RNA ۳۲
۳.۱۷.۱روش کار ۳۲
۳.۱۸ تعیین خلوص و غلظت RNA استخراج‌شده ۳۲
۳.۱۸.۱روش کار ۳۳
۳.۱۹ کنترل کیفیت RNA استخراج‌شده ۳۳
۳.۱۹.۱ ..... روش کار
۳۳
۳.۲۰ سنتز cDNA ۳۴
۳.۲۰.۱ روش کار ۳۴
۳.۲۱ طراحی پرایمر ۳۵
۳.۲۲ آماده‌سازی پرایمر ۳۶
۳.۲۳ تکثیر با استفاده از Real Time PCR ۳۶

۳.۲۳.۱روش کار ۳۶

۳.۲۴ روش تجزیه‌وتحلیل آماری ۳۸

۳.۲۵ مکان و زمان انجام مطالعه ۳۸

۳.۲۶ مشکلات و محدودیت‌ها ۳۸

٤. فصل چهارم..... ٤٠

۴.۱ نتایج ۴۱

۴.۱.۱ تعیین اندازه میکروپارتیکل‌های پلاکتی با روش DLS ۴۱

۴.۱.۲ حضور مارکرهای سطحی خاص رده پلاکتی بر سطح میکروپارتیکل‌های جداشده..... ۴۲

۴.۱.۳ مرفولوژی سلول‌های K562 ..... ۴۴

۴.۱.۴ زنده‌مانی سلول K562 بعد از تیمار با میکروپارتیکل پلاکتی به روش دفع رنگ تریپان بلو ۴۵

۴.۱.۵ کاهش فعالیت متابولیک سلول K562 با استفاده از آزمون رنگ سنجی MTT پس از تیمار با میکروپارتیکل پلاکتی ۴۶

۴.۱.۶ کاهش میزان Proliferation در سلول‌های K562 پس از تیمار با میکروپارتیکل‌های پلاکتی۴۸

۴.۱.۷ بررسی القای آپوپتوز در سلول‌های K562 توسط میکروپارتیکل‌های پلاکتی..... ۵۰

۴.۱.۸ بررسی چرخه‌ی سلولی در سلول‌های K562 پس از تیمار با میکروپارتیکل‌های پلاکتی.. ۵۰

۴.۱.۹ تغییر بیان ژن‌های مرتبط با تکثیر سلولی و آپوپتوز در سلول‌های K562 پس از تیمار با میکروپارتیکل‌های پلاکتی ۵۱

۵ فصل پنجم..... ٥٦

۵.۱ بحث ۵۷
۵.۲ نتیجه‌گیری ۶۱
۵.۳ پیشنهادات ۶۱

فهرست جداول

جدول ۱-۱: انواع میکرو وزیکول‌ها ۷
جدول ۱-۳: مربوط به دستگاه‌های مورداستفاده جهت انجام آزمایش ۱۹
جدول ۲-۳: جدول مربوط به مواد مورداستفاده جهت انجام آزمایش..... ۲۰
جدول ۳-۳: رده‌ی سلولی لوسمی میلوییدی مزمن K562 ..... ۲۵
جدول ٤-۳..... ۳٤
جدول ٥-۳..... ۳٥
جدول ٦-۳: پرایمر ۳٥
جدول ۷-۳: دستورالعمل شرکت AMPLIQON جهت تهیه MASTER MIX نهایی برای انجام REAL-TIME PCR ۳۷
جدول ۸-۳: نحوه تهیه مسترمیکس واکنش REAL TIME PCR ۳۷
جدول ۹-۳: برنامه زمانی مورداستفاده برای واکنش REAL TIME PCR..... ۳۸

فهرست اشکال

شکل ۱-۳: نتیجه‌ی حاصل از بررسی کمیت نمونه RNA با دستگاه نانودارپ..... ۳۳

شکل ۲-۳: حضور باندهای S,18S,28S۵ دال بر کیفیت RNA استخراج‌شده ۳٤

شکل ۱-٤: نتایج مربوط به سایز پارتیکل‌های موجود در سوسپانسیون حاوی میکروپارتیکل‌های پلاکتی..... ٤۲

شکل ۲-٤ : بررسی خصوصیات ایمونوفنوتایپی میکروپارتیکل¬های جدا شده از کیسه پلاکت. بررسی خصوصیات ایمونوفنوتایپی میکروپارتیکل‌های جدا شده از کیسه پلاکت. A: پراکندگی سایز و گرانولیتی پارتیکل‌ها B: ایزوتایپ کنترل¬ (FITC (FL1، C: ایزوتایپ کنترل (PE (FL2. D: بیان بالای آنتی ژن CD61 و E: بیان آنتی‌ژن CD42B به میزان زیاد که این ۲ مارکر تایید کننده فنوتیپ پلاکتی بودند. در نمودارهای فوق، محورهای افقی نمایانگر میزان رنگ کنژوگه‌های (FITC, PE) متصل به آنتی بادی‌های مورد نظر می‌باشد. محورهای عمودی تعداد میکروپارتیکل‌ها را نشان می‌دهد. خطوط RN1 و RN2 بیانگر پارتیکل‌های واجد مارکر ارزیابی است که توسط آنتی بادی‌های نشان‌دار شده با مواد فلورسنت مختلف شناسایی شده اند. ٤۳

شکل ۳-٤ :مرفولوژی سلول های K562 با میکروسکوب در بزرگنمایی های مختلف..... ٤٤

فهرست نمودار

نمودار ۱-۳: نمودار و مقدار TC ۳۱

نمودار ۱-٤ : اثر میکروپارتیکل‌های پلاکتی در غلظت‌های مختلف طی ۴۸ ساعت بر زنده‌مانی سلول‌های K562 به روش دفع رنگ تریپان بلو..... ٤٥

نمودار ۲-٤: اثر میکروپارتیکل‌های پلاکتی در غلظت‌های مختلف طی ۷۲ ساعت بر زنده‌مانی سلول‌های K562 به روش دفع رنگ تریپان بلو..... ٤٦

نمودار ۳-٤ : اثر میکروپارتیکل‌های پلاکتی بر فعالیت متابولیک سلول‌های K562 در تیمار ٤٨ ساعته غلظت‌های مختلف از میکروپارتیکل‌های پلاکتی ٤٧

نمودار ٤-٤ :اثر میکروپارتیکل‌های پلاکتی بر فعالیت متابولیک سلول‌های K562 در تیمار ۷۲ ساعته در غلظت‌های مختلف از میکروپارتیکل‌های پلاکتی ٤٨

نمودار ٥-٤ : اثر میکروپارتیکل‌های پلاکتی بر میزان PROLIFERATION سلول‌های K562 در تیمار ٤٨ ساعته غلظت‌های مختلف از میکروپارتیکل‌های پلاکتی ٤٩

نمودار ٦-٤ : اثر میکروپارتیکل‌های پلاکتی بر میزان PROLIFERATION سلول‌های K562 در تیمار ۷۲ ساعته در غلظت‌های مختلف از میکروپارتیکل‌های پلاکتی ٤٩

نمودار ۷-٤ : اثر سایتوتوکسیک میکروپارتیکل‌های پلاکتی در غلظت 400 µG/ML بر سلول‌های K562 پس ازتیمار ٤٨ ساعته٥٠

نمودار ۸-٤ : اثر میکروپارتیکل‌های پلاکتی بر الگوی سیکل سلولی در غلظت400 µG/ML بر سلول‌های K562 پس ازتیمار ٤٨ ساعته ٥١

نمودار ۹-٤ : میانگین و انحراف معیار تغییر در بیان ژن BCL-2 طی ٤٨ ساعت پس از تیمارهای مختلف ٥٢

نمودار ۱۰-٤ : میانگین و انحراف معیار تغییر در بیان ژن BAX طی ٤٨ ساعت پس از تیمارهای مختلف..... ٥٢

نمودار ۱۱-٤ : میانگین و انحراف معیار تغییر در بیان ژن P53 طی ٤٨ ساعت پس از تیمارهای مختلف ٥٣

نمودار ۱۲-٤ : میانگین و انحراف معیار تغییر در بیان ژن P21 طی ٤٨ ساعت پس از تیمارهای مختلف ٥٣

نمودار ۱۳-٤ : میانگین و انحراف معیار تغییر در بیان ژن CYCLIND1 طی ٤٨ ساعت پس از تیمارهای مختلف..... ٥٤

چکیده

زمینه و هدف: میکرووزیکول‌ها؛ وزیکول‌های کوچک غشایی هستند که از طریق جوانه زدن از غشای پلاسمایی سلول‌های مختلف خصوصاً در شرایطی مانند آپوپتوز، افزایش فعالیت و تحریک خارجی سلول‌ها ایجاد می‌شوند. میکروپارتیکل‌های پلاکتی (PMP) بیش از ۷۰ تا ۹۰ درصد از میکروپارتیکل‌های موجود در گردش خون را تشکیل می‌دهند. این میکروپارتیکل‌های حاوی واسطه‌های لیپیدی، فاکتورهای رونویسی، پروتئین‌ها، میتوکندری، نوکلئیک اسیدها، همچنین مولکول‌های سطحی شبیه به پلاکت‌ها می‌باشند. PMP ها از طریق اتصال به گیرنده سطح سلول و یا ادغام شدن در غشای پلاسمایی سلول‌ها به‌عنوان انتقال‌دهنده سیگنال عمل می‌کنند و به علت داشتن اندازه کوچک توسط جریان خون به مناطق مختلف بدن جابجا شده و بر انواع سلول‌ها تأثیر می‌گذارند. لوسمی میلوییدی مزمن(CML) نوعی لوسمی مزمن هماتوپوئتیک استم‌سل است که عمدتاً در افراد بزرگ‌سال رخ می‌دهد. این بیماری به علت جابجایی ژن‌های BCR-ABL روی کروموزوم‌های شماره ۹ و ۲۲ و درنتیجه ایجاد کروموزوم فیلادلفیا در مغز استخوان شکل می‌گیرد. در شرایط نرمال و شرایط پاتولوژیک هماتوپوتیک استم‌سل‌ها (HSc) با میکروپارتیکل‌های پلاکتی موجود در جریان خون در تماس هستند که این تماس باعث اعمال اثرات بیولوژیک بر روی هماتوپوتیک استم‌سل‌ها می‌شود. ازآنجایی‌که پلاکت‌ها نقش مهمی در پیشرفت سرطان دارند و میکروپارتیکل‌های آزادشده از پلاکت‌ها در تومورهای توپر و لوسمی‌های میلوپرولیفراتیو به‌طور چشم‌گیری افزایش میابد و در برخی از موارد این افزایش با پیش‌آگهی ضعیف همراه است و نظر به اینکه میکروپارتیکل‌های پلاکتی به دلیل غنی بودن از ترکیباتی مانند نوکلئیک اسیدها، لیپیدها و پروتئین‌ها بر تکثیر و بیان ژن سلول‌های سرطانی و همچنین تعامل این سلول‌ها با سایر سلول‌ها تأثیر گذاشته و باعث پیشرفت و یا سرکوب تومور می‌شوند، با توجه به اینکه تاکنون در رابطه با اثر میکروپارتیکل‌های پلاکتی بر تکثیر، فعالیت متابولیک و بیان ژن در سل‌لاین‌های خون‌ساز لوسمیک ازجمله سل‌لاین K562 مربوط با لوسمی میلوییدی مزمن مطالعه‌ای انجام نشده است هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر میکروپارتیکل‌های پلاکتی بر رشد و تکثیر رده‌ی سلولی لوسمی

میلوییدی مزمن (K562) است.

روش‌ها: پس از تهیه کیسه‌های پلاکتی منقضی شده، با استفاده از دورهای مختلف سانتریفیوژ میکروپارتیکل‌های پلاکتی تهیه و غلظت آن‌ها با روش پروتئین سنجی BCA تعیین شد. سایز میکروپارتیکل‌های جداشده با تکنیک DLS بررسی شد. برای تأیید منشأ میکروپارتیکل‌ها از فلوسایتومتری استفاده شد. پس از تیمار ٤٨ و ٧٢ ساعته سلول‌های K562 با غلظت‌های مختلف از میکروپارتیکل‌ها، زنده‌مانی سلول‌ها با آزمون دفع رنگ تریپان بلو و فلوسایتومتری و فعالیت متابولیک با آزمون رنگ سنجی MTT بررسی شد و برای شمارش تعداد سلول‌ها از هموسیتومتر و دستگاه شمارنده سلولی استفاده شد. همچنین پس از تیمار ٤٨ ساعته القای آپوپتوز و تغییرات چرخه‌ی سلولی با فلوسایتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از استخراج RNA و سنتز cDNA، بیان ژن‌های دخیل در تکثیر و آپوپتوز سلولی (BAX,BCL-2,P53,P21,CYCLIND1) با تکنیک Real time PCR ارزیابی شد.

یافته‌ها: بررسی سایز و مارکرهای سطحی میکروپارتیکل‌ها نشان داد که جداسازی میکروپارتیکل‌ها به‌درستی انجام‌شده بود. نتایج حاصل از شمارش سلولی و آزمون MTT حاکی از آن بود که میکروپارتیکل‌های پلاکتی رشد و تکثیر را در رده سلولی K562 کاهش می‌دهد. نتایج بررسی بیان ژن نشان‌دهنده افزایش در بیان ژن‌های P53,P21 و BCL-2 و کاهش در بیان ژن‌های CYCLIND1 و BAX بود. همچنین نتایج حاصل از فلوسایتومتری نشان داد که میکروپارتیکل‌های پلاکتی تأثیر معنی‌داری بر فازهای مختلف سیکل سلولی و آپوپتوز سلول‌ها ندارد.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نتایج حاصل از مطالعات گذشته مبنی بر توانایی میکروپارتیکل‌های پلاکتی در تعامل با سلول‌های سرطانی و تنظیم فعالیت متابولیکی این سلول‌ها را تأیید می‌کند و نشان می‌دهد که میکروپارتیکل‌های پلاکتی می‌توانند به‌عنوان یکی از روش‌های نوین کنترل ارتباطات بین سلولی و همچنین اهداف درمانی جدید در سرطان‌ها مورد بررسی‌های بیشتر و دقیق‌تر قرار بگیرند.

واژگان کلیدی: CML، میکروپارتیکل پلاکتی، ژن‌های CCND1 P21, P53, BCL-2, BAX,.

Abstract

Background: Chronic myeloid leukemia (CML) is a clonal myeloproliferative disorder that results from a translocation between chromosomes 9 and 22 in stem cells of the bone marrow. The latter generates the Bcr-Abl oncogene encoding a 210 KD chimeric protein with tyrosine-kinase activity. This protein activates various signal-transduction cascades involved in cell proliferation and differentiation. Platelet microparticles (MPs) represent the most abundant MPs subtype in the circulation, and can mediate intercellular communication through delivery of bioactives molecules, such as cytokines, proteins, lipids and RNAs. The aim of this study was to investigate the effect of microparticles on growth, proliferation, apoptosis and also the expression of p53, P21, CCND 1, BAX, BCL-2 genes in chronic myeloid leukemia cell line (K 562).

Methods: Platelet microparticles were prepared by centrifuging platelet bags at different speeds, and their concentration was determined by BCA assay. In order to confirm PMPs, DLS technique, Scanning electron microscope and flowcytometry were used for determining the size, Morphology of PMPs, and their immunophenotype. Then K 562 cell line was treated with microparticles and cell proliferation was measured by MTT assay and cell cycle evaluation. quantitative gene expression of BAX, BCL-2, CCND1, P53 and P21 was performed by real-time PCR. Finally, induction of cell apoptosis was examined by flow cytometry.

Results: DLS technique, Scanning electron microscope and flowcytometry confirmed isolation of PMPs. The results of this study showed that platelet microparticles reduce growth and proliferation in K562 cell line but do not have a significant effect on cellular apoptosis. Real-time PCR results showed an increase in P53, P 21, BCL-2 genes and a decrease in BAX and CCND 1 gene expression.

Conclusion: This study showed that platelet microparticles have the ability to regulate the biological activities of cancer cells so they can be considered as new therapeutic targets.

Keywords: cml, p53, P21, CCND 1, BAX, BCL-2

فهرست منابع

.١ Simpson RJ, Lim JW, Moritz RL, Mathivanan S. Exosomes: proteomic insights and diagnostic potential. Expert review of proteomics. 2009;6(3):267-83.

.٢ Mrvar-Brečko A, Šuštar V, Janša V, Štukelj R, Janša R, Mujagić E, et al. Isolated microvesicles from peripheral blood and body fluids as observed by scanning electron microscope. Blood Cells, Molecules, and Diseases. 2010;44(4):307-12.

.٣ Lee TH, D'Asti E, Magnus N, Al-Nedawi K, Meehan B, Rak J, editors. Microvesicles as mediators of intercellular communication in cancer—the emerging science of cellular 'debris'. Seminars in immunopathology; 2011: Springer.

.٤ Tushuizen ME, Diamant M, Sturk A, Nieuwland R. Cell-derived microparticles in the pathogenesis of cardiovascular disease: friend or foe? Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. 2011;31(1):4-9.

.٥ Holme PA, Ørvim U, Hamers MJ, Solum NO, Brosstad FR, Barstad RM, et al. Shear-induced platelet activation and platelet microparticle formation at blood flow conditions as in arteries with a severe stenosis. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. 1997;17(4):646-53.

.٦ Aliotta JM, Pereira M, Johnson KW, de Paz N, Dooner MS, Puente N, et al. Microvesicle entry into marrow cells mediates tissue-specific changes in mRNA by direct delivery of mRNA and induction of transcription. Experimental hematology. 2010;38(3):233-45.

.٧ Camussi G, Deregibus M-C, Bruno S, Grange C, Fonsato V, Tetta C. Exosome/microvesicle-mediated epigenetic reprogramming of cells. American journal of cancer research..٩٨:(١)١;٢٠١١

.٨ Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. Journal of Cell Biology. 2013;200(4):373-83.

.٩ Théry C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses. Nature reviews immunology. 2009;9(8):581-93.

.١٠ Trams EG, Lauter CJ, Salem JN, Heine U. Exfoliation of membrane ecto-enzymes in the form of micro-vesicles. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes. 1981;645(1):63-70.

.١١ Ohno S-i, Ishikawa A, Kuroda M. Roles of exosomes and microvesicles in disease pathogenesis. Advanced drug delivery reviews. 2013;65(3):398-401.

.١٢ McDaniel K, Correa R, Zhou T, Johnson C, Francis H, Glaser S, et al. Functional role of microvesicles in gastrointestinal malignancies. Annals of translational medicine. 2013;1(1).

.١٣ Mause SF, Weber C. Microparticles: protagonists of a novel communication network for intercellular information exchange. Circulation research. 2010;107(9):1047-57.

.١٤ Xiao T, Zhang W, Jiao B, Pan C-Z, Liu X, Shen L. The role of exosomes in the pathogenesis of Alzheimer'disease. Translational neurodegeneration. 2017;6(1):1-6.

.١٥ Gong J, Jaiswal R, Dalla P, Luk F, Bebawy M, editors. Microparticles in cancer: A review of recent developments and the potential for clinical application. Seminars in cell & developmental biology; 2015: Elsevier.

.١٦ Yu J, May L, Milsom C, Anderson GM, Weitz JI, Luyendyk JP, et al. Contribution of host-derived tissue factor to tumor neovascularization. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. 2008;28(11):1975-81.

.١٧ Nantakomol D, Dondorp AM, Krudsood S, Udomsangpetch R, Pattanapanyasat K, Combes V, et al. Circulating red cell–derived microparticles in human malaria. Journal of Infectious Diseases. 2011;203(5):700-6.
.١٨ Li S, Wei J, Zhang C, Li X, Meng W, Mo X, et al. Cell-derived microparticles in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. Cellular Physiology and Biochemistry. 2016;39(6):2439-50.
.١٩ Żmigrodzka M, Guzera M, Miśkiewicz A, Jagielski D, Winnicka A. The biology of extracellular vesicles with focus on platelet microparticles and their role in cancer development and progression. Tumor Biology. 2016;37(11):14391-401.
.٢٠ Ratajczak J, Wysoczynski M, Hayek F, Janowska-Wieczorek A, Ratajczak M. Membrane-derived microvesicles: important and underappreciated mediators of cell-to-cell communication. Leukemia. 2006;20(9):1487-95.
.٢١ Mezouar S, Mege D, Darbousset R, Farge D, Debourdeau P, Dignat-George F, et al., editors. Involvement of platelet-derived microparticles in tumor progression and thrombosis. Seminars in oncology; 2014: Elsevier.
.٢٢ Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. Journal of clinical oncology. 2006;24(14):2137-50.
.٢٣ Konopleva M, Tabe Y, Zeng Z, Andreeff M. Therapeutic targeting of microenvironmental interactions in leukemia: mechanisms and approaches. Drug Resistance Updates. 2009;12(4-5):103-13.
.٢٤ Bambace N, Holmes C. The platelet contribution to cancer progression. Journal of thrombosis and haemostasis. 2011;9(2):237-49.
.٢٥ Varon D, Shai E. Platelets and their microparticles as key players in pathophysiological responses. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2015;13:S40-S6.
.٢٦ Lazar S, Goldfinger LE. Platelet microparticles and miRNA transfer in cancer progression: many targets, modes of action, and effects across cancer stages. Frontiers in cardiovascular medicine. 2018;5:13.
.٢٧ Nazari M, Javandoost E, Talebi M, Movassaghpour A, Soleimani M. Platelet microparticle controversial role in cancer. Advanced Pharmaceutical Bulletin. 2021;11(1):39.
.٢٨ Kim HK, Song KS, Chung JH, Lee KR, Lee SN. Platelet microparticles induce angiogenesis in vitro. British journal of haematology. 2004;124(3):376-84.
.٢٩ Sadallah S, Schmied L, Eken C, Charoudeh HN, Amicarella F, Schifferli JA. Platelet-derived ectosomes reduce NK cell function. The Journal of Immunology.٧١-١٦٦٣:(٥)١٩٧;٢٠١٦ .
.٣٠ Xie RF, Hu P, Wang ZC, Yang J, Yang YM, Gao L, et al. Platelet-derived microparticles induce polymorphonuclear leukocyte-mediated damage of human pulmonary microvascular endothelial cells. Transfusion. 2015;55(5):1051-7.
.٣١ Lo S-C, Hung C-Y, Lin D-T, Peng H-C, Huang T-F. Involvement of platelet glycoprotein Ib in platelet microparticle mediated neutrophil activation. Journal of biomedical science. 2006;13(6):787-96.
.٣٢ Janowska-Wieczorek A, Wysoczynski M, Kijowski J, Marquez-Curtis L, Machalinski B, Ratajczak J, et al. Microvesicles derived from activated platelets induce metastasis and angiogenesis in lung cancer. International journal of cancer. 2005;113(5):752-60.
.٣٣ Baj-Krzyworzeka M, Majka M, Pratico D, Ratajczak J, Vilaire G, Kijowski J, et al. Platelet-derived microparticles stimulate proliferation, survival, adhesion, and chemotaxis of hematopoietic cells. Experimental hematology. 2002;30(5):450-9.
.٣٤ Michael JV, Wurtzel JG, Mao GF, Rao AK, Kolpakov MA, Sabri A, et al. Platelet microparticles infiltrating solid tumors transfer miRNAs that suppress tumor growth. Blood, The Journal of the American Society of Hematology. 2017;130(5):567-80.

.٣٥ Nafady A, Saleh MFM, Nafady-Hego H, Wahman MM, Nasif KA, Sedik WF. Role of circulating endothelial cells and platelet microparticles as markers of angiogenesis in chronic myeloid leukemia. The Egyptian Journal of Haematology. 2018;43(4):171.
.٣٦ Sawyers CL. Chronic myeloid leukemia. New England Journal of Medicine. 1999;340(17):1-٣٣٠
.٤٠
.٣٧ Hehlmann R, Hochhaus A, Baccarani M. Chronic myeloid leukaemia. The Lancet. 2007;370(9584):342-50.
.٣٨ Tarver T. Cancer facts & figures 2012. American cancer society (ACS) Atlanta, GA: American Cancer Society, 2012. 66 p., pdf. Available from. Taylor & Francis; 2012.
.٣٩ Amouei A, Daeian N, Khezrnia SS, Mansouri A, Hadjibabaie M. Imatinib Efficacy, Safety and Resistance in Iranian Patients with Chronic Myeloid Leukemia: A Review of Literature. International Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell Research. 2021;15(2):114-31.
.٤٠ Rohrbacher M, Hasford J. Epidemiology of chronic myeloid leukaemia (CML). Best practice & research Clinical haematology. 2009;22(3):295-302.
.٤١ Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2018 update on diagnosis, therapy and monitoring. American journal of hematology. 2018;93(3):442-59.
.٤٢ Hoelzer D, Gökbuget N, Ottmann O, Pui C-H, Relling MV, Appelbaum FR, et al. Acute lymphoblastic leukemia. ASH Education Program Book. 2002;2002(1):162-92.
.٤٣ Schoch C, Schnittger S, Bursch S, Gerstner D, Hochhaus A, Berger U, et al. Comparison of chromosome banding analysis, interphase-and hypermetaphase-FISH, qualitative and quantitative PCR for diagnosis and for follow-up in chronic myeloid leukemia: a study on 350 cases. Leukemia. 2002;16(1):53-9.
.٤٤ Arber DA, Orazi A, Hasserjian R. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia (vol 127, pg 2391, 2016). Blood. 2016;128(3):462-3.
.٤٥ Druker BJ, Lydon NB. Lessons learned from the development of an abl tyrosine kinase inhibitor for chronic myelogenous leukemia. The Journal of clinical investigation. 2000;105(1):3-7.
.٤٦ Saglio G, Hochhaus A, Goh YT, Masszi T, Pasquini R, Maloisel F, et al. Dasatinib in imatinib-resistant or imatinib-intolerant chronic myeloid leukemia in blast phase after 2 years of follow-up in a phase 3 study: Efficacy and tolerability of 140 milligrams once daily and 70 milligrams twice daily. Cancer. 2010;116(16):3852-61.
.٤٧ Caldemeyer L, Dugan M, Edwards J, Akard L. Long-term side effects of tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloid leukemia. Current hematologic malignancy reports. 2016;11(2):71-9.
.٤٨ Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, Peng B, Buchdunger E, Ford JM, et al. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. New England Journal of Medicine. 2001;344(14):1031-7.
.٤٩ Valeyrie L, Bastuji-Garin S, Revuz J, Bachot N, Wechsler J, Berthaud P, et al. Adverse cutaneous reactions to imatinib (STI571) in Philadelphia chromosome-positive leukemias: a prospective study of 54 patients. Journal of the American Academy of Dermatology. 2003;48(2):201-6.
.٥٠ Lee WJ, Lee JH, Won CH, Chang SE, Choi JH, Moon KC, et al. Clinical and histopathologic analysis of 46 cases of cutaneous adverse reactions to imatinib. International journal of dermatology. 2016;55(5):e268-e74.
.٥١ Pavlů J, Szydlo RM, Goldman JM, Apperley JF. Three decades of transplantation for chronic myeloid leukemia: what have we learned? Blood, The Journal of the American Society of Hematology. 2011;117(3):755-63.
.٥٢ Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, Hochhaus A, Soverini S, Apperley JF, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. Blood, The Journal of the American Society of Hematology. 2013;122(6):872-84.

.٥٣ Stern M, De Wreede L, Brand R, Van Biezen A, Dreger P, Mohty M, et al. Sensitivity of hematological malignancies to graft-versus-host effects: an EBMT megafile analysis. Leukemia. 2014;28(11):2235-40.
.٥٤ Wang S, Li Z, Xu R. Human cancer and platelet interaction, a potential therapeutic target. International journal of molecular sciences. 2018;19(4):1246.
.٥٥ Pour MSS, Kasgari FH, Farsinejad A, Fatemi A, Khalilabadi RM. Platelet-Derived Microparticles Increase Expression of hTERT in Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells. Research in Molecular Medicine (RMM). 2017:31–40-31–40.
.٥٦ Dymicka-Piekarska V, Gryko M, Lipska A, Korniluk A, Siergiejko E, Kemona H. Platelet-derived microparticles in patients with colorectal cancer. 2012.
.٥٧ Kissova J, Ovesna P, Bulikova A, Penka M. Increasing procoagulant activity of circulating microparticles in patients with Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms: a single-centre experience. Blood Coagulation & Fibrinolysis. 2015;26(4):448-53.
.٥٨ Dashevsky O, Varon D, Brill A. Platelet-derived microparticles promote invasiveness of prostate cancer cells via upregulation of MMP-2 production. International journal of cancer. 2.٧-١٧٧٣:(٨)١٢٤;٠٠٩
.٥٩ Nomura S, Ito T, Satake A, Ishii K. Assessment of soluble cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, transforming growth factor β1, and platelet-derived microparticles during dasatinib therapy for patients with chronic myelogenous leukemia. Journal of blood medicine. 2019;10:1.
.٦٠ Pan Y, Liang H, Liu H, Li D, Chen X, Li L, et al. Platelet-secreted microRNA-223 promotes endothelial cell apoptosis induced by advanced glycation end products via targeting the insulin-like growth factor 1 receptor. The Journal of Immunology. 2014;192(1):437-46.
.٦١ Szilágyi B, Fejes Z, Rusznyák Á, Fenyvesi F, Pócsi M, Halmi S, et al. Platelet Microparticles Enriched in miR-223 Reduce ICAM-1-Dependent Vascular Inflammation in Septic Conditions. Frontiers in Physiology. 2021;12:691.
.٦٢ Vismara M, Zarà M, Negri S, Canino J, Canobbio I, Barbieri SS, et al. Platelet-derived extracellular vesicles regulate cell cycle progression and cell migration in breast cancer cells. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research. 2021;1868(1):118886.
.٦٣ Laffont B, Corduan A, Rousseau M, Duchez A-C, Lee CHC, Boilard E, et al. Platelet microparticles reprogram macrophage gene expression and function. Thrombosis and haemostasis. 2016;115(02):311-23.
.٦٤ Liang H, Yan X, Pan Y, Wang Y, Wang N, Li L, et al. MicroRNA-223 delivered by platelet-derived microvesicles promotes lung cancer cell invasion via targeting tumor suppressor EPB41L3. Molecular cancer. 2015;14(1):1-13.
.٦٥ Cacic D, Reikvam H, Nordgård O, Meyer P, Hervig T. Platelet Microparticles Protect Acute Myelogenous Leukemia Cells against Daunorubicin-Induced Apoptosis. Cancers. 2021;13(8):1870.
.٦٦ Mello SS, Attardi LD. Deciphering p53 signaling in tumor suppression. Current opinion in cell biology. 2.٧٢-٥١:٦٥;٠١٨
.٦٧ Xiao B-D, Zhao Y-J, Jia X-Y, Wu J, Wang Y-G, Huang F. Multifaceted p21 in carcinogenesis, stemness of tumor and tumor therapy. World journal of stem cells. 2020;12(6):481.
.٦٨ Sommer G, Dittmann J, Kuehnert J, Reumann K, Schwartz P, Will H, et al. The RNA-binding protein La contributes to cell proliferation and CCND1 expression. Oncogene. 2011;30(4):434-44.
.٦٩ Bonnefoy-Berard N, Aouacheria A, Verschelde C, Quemeneur L, Marçais A, Marvel J. Control of proliferation by Bcl-2 family members. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research. 2004;1644(2-3):159-68.

بسمه تعالی

تاریخ ۱۴۰۰/۹/۱۰

شماره ۱۱۵۱

کد اخلاق IR.Kmu.REC.1399.420

صورتجلسه دفاع از پایان نامه

دانشگاه علوم پزشکی کرمان
تحصیلات تکمیلی دانشگاه

جلسه دفاعیه پایان نامه خانم **فریبا نیک روش** کارشناسی ارشد رشته خون شناسی وبانک خون دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تحت عنوان **بررسی اثر میکروپارتیکل های پلاکتی بر رشد وتکثیر رده ی سلولی لوسمی میلوییدی مزمن K562**

در ساعت ۱۲ روز چهار شنبه مورخ ۱۴۰۰/۹/۱۰ با حضور اعضای محترم هیات داوران متشکل از:

سمت	نام و نام خانوادگی	امضا
الف:استاد راهنما اول	**دکتر هاجر مردانی**	
ب : استاد راهنما دوم	----------	
ج: استاد مشاور:	**دکتر روح اله میرزایی**	
د: استاد مشاور:	**دکتر علیرضا فارسی نژاد**	
د :عضو هیات داوران (داخلی)	**دکتر سعید زنگنه**	
ذ: عضو هیات داوران (خارجی)	**دکترحسین پور قدمیاری**	
ر: نماینده تحصیلات تکمیلی	**دکتر مهدی زمانلو**	

تشکیل گردید و ضمن ارزیابی به شرح پیوست با درجه عالی و نمره ۱۹/۱ مورد تأیید قرار گرفت.

مهر و امضاء معاون آموزشی

دانشگاه علوم پزشکی کرمان
دانشکده پیراپزشکی